

# 细胞化学染色在急性白血病分型中的应用

宫继勇<sup>1</sup>, 毕早斌<sup>2</sup>, 田万林<sup>1</sup>

[摘要]目的: 探讨细胞化学染色法对急性白血病 (acute leukemia, AL) 诊断分型的价值。方法: 骨髓涂片常规瑞氏染色, 细胞化学染色包括过氧化物酶 (POX)、特异性酯酶 (CE)、非特异性酯酶 (NAE) (即  $\alpha$  醋酸萘酚酯)、糖原 (PAS) (即过碘酸雪夫) 染色。结果: POX、CE、PAS 可区别急性淋巴细胞白血病 (ALL) 与急性非淋巴细胞白血病 (ANLL), NAE 加氟化钠抑制试验对区分粒系和单核系白血病有重要意义。细胞形态学对 AL 的确诊率为 74.69%, 加做细胞化学染色可将诊断率提高到 90.1%。结论: 细胞化学染色对 AL 的确诊分型和鉴别诊断是不可缺少的客观指标, 可以明显提高 AL 的诊断率, 且方法稳定, 操作简便。

[关键词] 白血病; 细胞技术; 细胞化学染色; 分型

[中国图书资料分类法分类号] R 733.74; R 446.13 [文献标识码] A

## Application of cytochemistry staining in classification of acute leukemia

GONG Ji-yong, BI Zhao-bin, TIAN Wan-lin

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004

2. Chizhou Criminal Police Detachment, Chizhou 247100, China)

[Abstract] Objective: To diagnose and classify acute leukemia (AL) by cytochemistry staining. Methods: Bone marrow slides were stained with Wright staining and cytochemistry staining including peroxidase (POX), naphthol ASD chloroacetate esterase (CE), and alpha naphthyl acetate esterase (NAE) with sodium fluoride inhibition and periodic acid Schiff reaction (PAS). Results: POX, CE and PAS could distinguish acute nonlymphocytic leukemia (ANLL) from acute lymphocytic leukemia (ALL). NAE with sodium fluoride inhibition could differentiate granulocytic leukemia from monocytic leukemia. Furthermore, the diagnostic rate of AL increased from 74.69% with only morphology to 90.1% with both cytochemistry and morphology. Conclusions: Cytochemistry staining is of great value for the diagnosis and classification of AL and can increase the conformity rate.

[Key words] acute leukemia; cytological techniques; cytochemistry staining; classify

临床上白血病的诊断及分型主要靠骨髓细胞的形态学观察, 按照骨髓细胞的分化程度, 把白血病分成急性白血病 (acute leukemia, AL) 和慢性白血病, 而 AL 由于白血病细胞分化差加上其形态不同程度的畸变, 往往给分型带来一定的难度, 尤其是急性淋巴细胞白血病 (ALL) 与急性非淋巴细胞白血病 (ANLL) 有时在光镜下很难区分, 在 ANLL 各型之间也时常发生混淆。细胞化学染色是通过化学处理, 在显微镜下显示细胞某种化学成分的技术<sup>[1]</sup>。运用细胞化学技术研究白血病患者血细胞成分、结构及代谢的改变, 可作为 AL 分型和鉴别诊断的重要方法。

## 1 资料与方法

1.1 对象 为 2003 年 1 月 ~ 2005 年 8 月我院门诊

及住院 71 例初诊的 AL 患者。男 35 例, 女 36 例; 年龄 2 ~ 77 岁。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞形态学检查 骨髓涂片由临床医师髂前(后)上嵴穿刺送检, 同时外周血制片 4 ~ 5 张, 瑞氏染色, 按 FAB 形态分型<sup>[2]</sup> 标准进行分类。

1.2.2 细胞化学染色 过氧化物酶染色 (POX) 用联苯胺法; 非特异性酯酶染色 (NAE), 以醋酸萘酚为底物; 非特异性酯酶加氟化钠抑制 (NAE + NaF) 试验; 特异性酯酶染色 (CE), 以氯乙酸 ASD 萘酚为底物; 过碘酸雪夫染色 (PAS), 用 Schiff 法。

1.2.3 阳性率及积分值 按常规方法在细胞分布均匀的部位计数 100 个白血病原始及幼稚呈阳性反应的细胞, 全部阳性细胞之和即为阳性率。根据胞质中染色颗粒及阳性细胞均以 “+” 表示, “+” 记为 1 分, “++” 记为 2 分, “+++” 记为 3 分, “++++” 记为 4 分, 将所有阳性反应的细胞, 均换算为积分后的总和即为积分值。

[收稿日期] 2006-01-20

[作者单位] 1. 蚌埠医学院附属医院 检验科, 安徽 蚌埠 233000

2. 安徽省池州市公安局刑警支队, 247100

[作者简介] 宫继勇 (1971-), 男, 主管检验师。

## 2 结果

2.1 FAB形态学分型 71例 AL中, ANLL 57例 ( $M_1$  12例,  $M_2$  17例,  $M_3$  5例,  $M_4$  8例,  $M_5$  15例), ALL 14例。其中有 18例 AI( $M_1$  2例,  $M_2$  3例,  $M_3$  1例,  $M_4$  4例,  $M_5$  4例, ALL 4例)形态上不能明确分型,经细胞化学染色后,11例可明确分型,形态学的确诊率为 74.6%,加做细胞化学染色诊断率提高到 90.1%。

2.2 细胞化学染色 结果显示, ALL原始细胞 POX均为阴性,  $M_1 \sim M_5$  为阳性,各类型的积分值大小为  $M_3 > M_2 > M_4 > M_5 > M_1$ 。CE染色: ALL均为阴性,粒系的 CE随着细胞的成熟而增加,其反应顺序为  $M_3 > M_2 > M_4 > M_5 > M_1$ 。PAS染色 ALL阳性细胞中红色颗粒粗,有的成块状,与 ANLL有明显区别。作 NAE的  $M_1$ 、 $M_2$  29例中 16例阳性,  $M_3$  15例全阳性,多为中等强度,其中 NaF抑制试验 13例明显被抑制,2例轻度被抑制;  $M_5$  5例均为阳性,积分很高,做 NaF抑制试验,基本不被抑制。  $M_3$  在 4种细胞化学染色中以积分高为其特点,居急性非淋巴细胞白血病之首(见表 1)。

表 1 7192例 AI分类分型及各亚型 4种细胞化学染色结果[率(%)]

AL	n	POX		CE		PAS		NAE		NaF抑制率
		阳性率	积分值	阳性率	积分值	阳性率	积分值	阳性率	积分值	
ALL	14	0	0	0	0	58.8	68.6	11.6	18.6	5.8
$M_1$	12	5.0	6.1	6.6	97.5	31.3	53.6	24.1	32.8	11.3
$M_2$	17	88.5	153.8	65.8	80.7	94.7	123.1	38.6	46.8	10.2
$M_3$	5	99.4	361.4	98.4	313.4	94.0	167.8	87.8	186.0	10.0
$M_4$	8	54.3	90.8	34.4	102.3	96.1	127.6	76.5	85.0	67.6
$M_5$	15	44.5	56.6	24.1	43.1	95.3	121.8	97	146.5	84.4

## 3 讨论

目前对 AI的诊断分型仍以形态学为主,然而其主观性很强,存在一定局限性。细胞化学染色以其简便、经济及特异性等特点,对 AI的分型起重要的补充作用,加做细胞化学染色不仅可证实形态学的诊断,而且可以提高 AI的诊断率。本研究结果显示,形态学的观察辅以细胞化学检查对 AI的诊断率可由 74.6%提高到 90.1%。

POX主要存在于粒系中,原始粒细胞即可出

现,该酶活性随着细胞的分化成熟而逐渐增强,单核系亦含此酶,但活性较粒系弱,而淋巴细胞缺乏此酶,本研究 14例 ALL POX均为阴性,证实了这点。糖原是葡萄糖重要贮存形式和细胞代谢的能量来源,广泛存在于各类各阶段细胞中,PAS染色结构显示,ALL患者阳性细胞中红色颗粒粗大、成块,而 ANLL较细小,这两种染色可作为 ALL与 ANLL的一个区别特征。

特异性酯酶又称粒细胞酯酶,对确定粒系有重要价值<sup>[1]</sup>,阳性反应呈鲜红色。粒系的 CE随着粒细胞的成熟而增加,  $M_1$ 、 $M_2$  的原粒一般为阴性,极少发育好的可见弱阳性,中幼粒、晚幼粒、成熟粒细胞及  $M_3$  的早幼粒细胞反应强度为(++)~(+++)。  $M_5$  为阴性或弱阳性,阳性物为均匀的弥散状分布。 ALL是阴性,因此 CE染色也可作为区别 ALL与 ANLL的重要方法。

NAE在粒、单系统中均存在,但前者较弱,且对 NaF不敏感,而后者往往较强,对 NaF敏感,此特征有助于粒、单细胞的鉴别,特别是  $M_3$  与  $M_1$ 、 $M_2$ 、 $M_5$ 、 $M_4$  的鉴别,本文中 15例  $M_3$  NAE均为阳性,且被 NaF抑制。尽管  $M_4$  可采用 NAE+NaF部分被抑制的方法来判断,但其特异性不强,酯酶双染法可将 CE与 NAE结合在同一标本上出现不同的颜色,这对  $M_4$  的诊断具有重要价值<sup>[3]</sup>。

总之,细胞化学染色是 AI诊断、分型和鉴别诊断中不可缺少的客观指标,它可以明显提高 AI的诊断率,并且方法稳定,操作简便,便于广大基层医院接受。尽管它的优点明显,但仍有少数白血病还是不能确定其类型,此时还需结合免疫学、细胞遗传学、分子生物学等方法进行综合分析,方能得到正确的诊断<sup>[4]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 王冀粤. 细胞化学染色对急性髓系白血病 ( $M_4$ ) 分型意义的探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2001, 1(7): 999-1000.
- [2] 姚尔固, 徐世荣, 董作仁. 新编白血病化学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2000 1-2.
- [3] Eshetany MT, Peterson B, MacCallum J et al. Double esterase staining and other neutrophilic granule abnormalities in 237 patients with the myelodysplastic syndrome studied by the cancer and leukemia group B[J]. Acta Haematol, 1998, 100(1): 13-16.
- [4] 唐亚辉, 马 葵, 李次芬, 等. 急性白血病的形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学分型[J]. 中华血液学杂志, 2002, 23(5): 264-266.